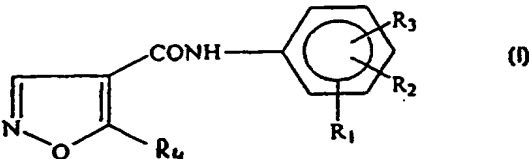


**PCT**  
 WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
 Internationales Büro  
 INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
 INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)



<p>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>7</sup> :  <b>A61K 31/42, A61P 31/12, 31/14, 31/16</b></p>	<b>A2</b>	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: <b>WO 00/40242</b></p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: <b>13. Juli 2000 (13.07.00)</b></p>		
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top; border: none; padding: 5px;"> <p>(21) Internationales Aktenzeichen: <b>PCT/EP99/10463</b></p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: <b>29. Dezember 1999 (29.12.99)</b></p> <p>(30) Prioritätsdaten:  <b>198 60 802.0      30. Dezember 1998 (30.12.98)    DE</b></p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): <b>AXXIMA PHARMACEUTICALS AG [DE/DE]; Am Klopferspitz 19, D-82152 Martinsried (DE).</b></p> <p>(72) Erfinder; und            (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): <b>ULLRICH, Axel [DE/DE]; Am Klopferspitz 18a, D-82152 Martinsried (DE).</b></p> <p>(74) Anwälte: <b>WEICKMANN, H. usw.; Kopernikusstrasse 9, D-81679 München (DE).</b></p> </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top; border: none; padding: 5px;"> <p>(81) Bestimmungsstaaten: <b>AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</b></p> <p><b>Veröffentlicht</b>  <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i></p> </td> </tr> </table>			<p>(21) Internationales Aktenzeichen: <b>PCT/EP99/10463</b></p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: <b>29. Dezember 1999 (29.12.99)</b></p> <p>(30) Prioritätsdaten:  <b>198 60 802.0      30. Dezember 1998 (30.12.98)    DE</b></p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): <b>AXXIMA PHARMACEUTICALS AG [DE/DE]; Am Klopferspitz 19, D-82152 Martinsried (DE).</b></p> <p>(72) Erfinder; und            (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): <b>ULLRICH, Axel [DE/DE]; Am Klopferspitz 18a, D-82152 Martinsried (DE).</b></p> <p>(74) Anwälte: <b>WEICKMANN, H. usw.; Kopernikusstrasse 9, D-81679 München (DE).</b></p>	<p>(81) Bestimmungsstaaten: <b>AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</b></p> <p><b>Veröffentlicht</b>  <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i></p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: <b>PCT/EP99/10463</b></p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: <b>29. Dezember 1999 (29.12.99)</b></p> <p>(30) Prioritätsdaten:  <b>198 60 802.0      30. Dezember 1998 (30.12.98)    DE</b></p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): <b>AXXIMA PHARMACEUTICALS AG [DE/DE]; Am Klopferspitz 19, D-82152 Martinsried (DE).</b></p> <p>(72) Erfinder; und            (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): <b>ULLRICH, Axel [DE/DE]; Am Klopferspitz 18a, D-82152 Martinsried (DE).</b></p> <p>(74) Anwälte: <b>WEICKMANN, H. usw.; Kopernikusstrasse 9, D-81679 München (DE).</b></p>	<p>(81) Bestimmungsstaaten: <b>AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</b></p> <p><b>Veröffentlicht</b>  <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i></p>			
<p>(54) Title: <b>PRODUCTION OF AN AGENT ACTING AGAINST HEPATITIS B, HI, PARAMYXO- AND ORTHOMYXOVIRUSES</b></p> <p>(54) Bezeichnung: <b>HERSTELLUNG EINES MITTELS GEGEN HEPATITIS B-, HI-, PARAMYXO- UND ORTHOMYXO-VIREN</b></p> <div style="text-align: center; margin: 20px 0;">  <p style="margin-left: 600px;">(I)</p> </div> <p>(57) Abstract</p> <p>The invention relates to the utilisation of a substance of general formula (I) wherein (A) R<sub>1</sub> and R<sub>2</sub> are both hydrogen, R<sub>3</sub> is halogen, -CF<sub>3</sub> is alkoxy with one or two carbon atoms or a halogen substituted alkoxy with one or two carbon atoms and R<sub>4</sub> is alkyl with one to four carbon atoms or cycloalkyl with three or four carbon atoms, (B) R<sub>1</sub> is hydrogen and R<sub>2</sub> and R<sub>3</sub> which are the same or different are halogen or -CF<sub>3</sub> and R<sub>4</sub> is alkyl with one to four carbon atoms or cycloalkyl with three or four carbon atoms, (C) R<sub>1</sub> is hydrogen, R<sub>2</sub> is alkyl with one or two carbon atoms, R<sub>3</sub> is halogen and R<sub>4</sub> is alkyl with one to four carbon atoms or cycloalkyl with three or four carbon atoms, (D) R<sub>1</sub> is hydrogen, R<sub>2</sub> and R<sub>3</sub> together are 3',4'-methylenedioxy and R<sub>4</sub> is alkyl with one to four carbon atoms or cycloalkyl with three or four carbon atoms or the utilisation of a derivative of said formula, whereby said derivative has an open isoxazole ring or a physiologically compatible salt of said formula for producing an agent for the prevention or treatment of virus infections caused by hepatitis B viruses, HI viruses, viruses of the paramyxo group or/and orthomyxo group.</p>				

**(57) Zusammenfassung**

Verwendung einer Substanz der allgemeinen Formel (I), worin (A) R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> jeweils Wasserstoff sind, R<sub>3</sub> ein Halogen, -CF<sub>3</sub>, Alkoxy mit 1 oder 2 Kohlenstoffatomen oder ein halogensubstituiertes Alkoxy mit 1 oder 2 Kohlenstoffatomen ist, und R<sub>4</sub> Alkyl mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen oder Cycloalkyl mit 3 oder 4 Kohlenstoffatomen ist; (B) R<sub>1</sub> Wasserstoff ist und R<sub>2</sub> und R<sub>3</sub>, die gleich oder unterschiedlich sind, ein Halogen oder -CF<sub>3</sub> sind, und R<sub>4</sub> Alkyl mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen oder Cycloalkyl mit 3 oder 4 Kohlenstoffatomen ist; (C) R<sub>1</sub> Wasserstoff ist, R<sub>2</sub> Alkyl mit 1 oder 2 Kohlenstoffatomen ist, R<sub>3</sub> ein Halogen ist und R<sub>4</sub> Alkyl mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen oder Cycloalkyl mit 3 oder 4 Kohlenstoffatomen ist; (D) R<sub>1</sub> Wasserstoff ist, R<sub>2</sub> und R<sub>3</sub> zusammen 3',4'-Methylenedioxy sind und R<sub>4</sub> Alkyl mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen oder Cycloalkyl mit 3 oder 4 Kohlenstoffatomen ist; oder eines Derivas davon mit offenem Isoxazolring oder eines physiologisch verträglichen Salzes davon, zur Herstellung eines Mittels zur Prävention oder Behandlung von Virusinfektionen durch Hepatitis-B-Viren, HI-Viren, Viren der Paramyxogruppe oder/und der Orthomyxogruppe.

**LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

## Herstellung eines Mittels gegen Hepatitis B-, HI-, Paramyxo- und Orthomyxo-Viren

5

### Beschreibung

Die Erfindung betrifft die Verwendung einer Substanz der allgemeinen Formel I zur Herstellung eines Mittels zur Behandlung von mit Hepatitis-B-Viren (HBV), HI-Viren, Viren der Paramyxogruppe oder/und der Orthomyxogruppe assoziierten Erkrankungen, ein Verfahren zum Vermindern oder  
10 Inhibieren des Wachstums oder Vermehrung derartiger Viren, und ein Verfahren zum Nachweis derartiger Viren.

Hepatitis-B-Virus-Infektion führt zu akuter und in bestimmten Fällen  
15 chronischer Erkrankung der Leber. Weltweit sind nach Schätzungen der WHO etwa 350 Millionen Menschen persistent mit HBV infiziert. Chronisch Infizierte tragen ein hohes Risiko, an chronischer aktiver Hepatitis, Leberzirrhose oder hepatozellulärem Carcinom zu erkranken. Obwohl hochwirksame HBV Vakzine seit 1982 verfügbar sind, können bereits  
20 infizierte Patienten damit nicht therapiert werden. Die verfügbare antivirale Therapie mit Interferon alpha ist mit Nebenwirkungen verbunden und nur bei einem Teil der Patienten einsetzbar und wirksam. Neuere Behandlungsmöglichkeiten mit Nucleosidanalogen wie 3'-Thiacytidin erscheinen erfolgversprechend und verträglich, aber die Langzeitwirksamkeit ist bisher  
25 unbekannt, vor allem in Anbetracht bereits beobachteter Resistenzbildung. Die Bereitstellung von Mitteln mit geringen Nebenwirkungen, die nicht zur Resistenzbildung führen, ist daher wünschenswert. Die zunehmende Bedeutung von Kombinationstherapien erfordert die Entwicklung zusätzlicher Mittel, die mit anderen Stadien des Infektionszyklus oder des Krankheitsverlaufs interferieren.  
30

- 2 -

Eine HIV-Infektion führt in den meisten Fällen nach unterschiedlich langen Latenzphasen zur Ausprägung von AIDS (acquired immune deficiency syndrome), dessen Krankheitsbild und -verlauf neben den Auswirkungen der Primärinfektion durch den HI-Virus in erheblichem Maß von Sekundärinfektionen bestimmt wird. Die Kombinationstherapie mit mehreren Wirkstoffen (Nucleosidanaloge, Proteaseinhibitoren) spielt auch in der Therapie HIV-infizierter Patienten die entscheidende Rolle, allerdings ist damit nur eine Verzögerung und Erleichterung des Krankheitsverlaufs möglich, keine Heilung von AIDS. Ein Impfstoff steht derzeit nicht zur Verfügung.

Viren der Familie Orthomyxoviridae umfassen Influenzaviren der Gruppen A, B und C. Influenza A und B Viren verursachen in infizierten Patienten ein Spektrum an klinischen Symptomen, das von asymptomatisch bis zu viraler Pneumonie mit tödlichem Ausgang reicht. Diese Viren können, bedingt durch Rekombination genetischer Information zwischen verschiedenen Stämmen, weltweite Epidemien mit exzessiver Mortalitätsrate auslösen. Eine Impfung von Risikogruppen mit der jährlich von der WHO empfohlenen Zusammensetzung inaktivierter Vakzine wird routinemäßig durchgeführt. Amantadine und Rimantadine stehen zur Prophylaxe und Therapie als antivirales Mittel zur Verfügung, sind allerdings nur gegen Influenza A wirksam, nicht gegen Influenza B, das in einem Viertel der Fälle für Hospitalisierung verantwortlich ist, oder gegen resistente Stämme. Zu den Paramyxoviren gehören Mumps-, Masern-, Hundestaupe-, Rinderpest- und Respiratory Syncytial Virus.

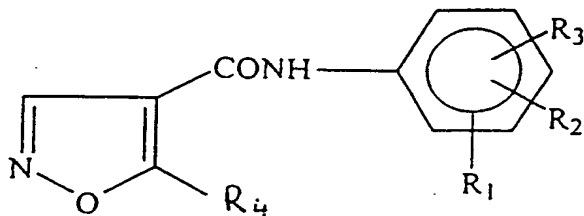
Daher besteht seit langem das Bedürfnis für wirksame Mittel gegen Hepatitis-B-Viren, HI-Viren, Viren der Paramyxovirus- und Orthomyxovirusgruppe, die geringe Nebenwirkungen aufweisen und kostengünstig in geeigneten Darreichungsformen bereitgestellt werden können.

Eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es deshalb, Mittel zur Behandlung von Hepatitis-B-Viren, HI-Viren, Viren der Paramyxovirus- oder/und

- 3 -

der Orthomyxogruppe bereitzustellen, die eine gute Wirksamkeit gegen diese Viren haben sowie geringe Nebenwirkungen aufweisen.

Gelöst wird diese Aufgabe erfindungsgemäß durch die Verwendung einer Substanz der allgemeinen Formel I



worin

- (A)  $R_1$  und  $R_2$  jeweils Wasserstoff sind,  $R_3$  ein Halogen,  $-CF_3$ , Alkoxy mit 1 oder 2 Kohlenstoffatomen oder ein halogensubstituiertes Alkoxy mit 1 oder 2 Kohlenstoffatomen ist, und  $R_4$  ein  $C_1$ - $C_4$ -Alkyl oder  $C_3$ - $C_4$ -Cycloalkyl, insbesondere  $CH_3$  ist,
- (B)  $R_1$  Wasserstoff ist,  $R_2$  und  $R_3$ , die gleich oder unterschiedlich sind, ein Halogen oder  $-CF_3$  sind, und  $R_4$  ein  $C_1$ - $C_4$ -Alkyl oder  $C_3$ - $C_4$ -Cycloalkyl, insbesondere  $CH_3$  ist,
- (C)  $R_1$  Wasserstoff ist,  $R_2$  Alkyl mit 1 oder 2 Kohlenstoffatomen ist,  $R_3$  ein Halogen,  $-CF_3$ , Alkoxy mit 1 oder 2 Kohlenstoffatomen oder ein halogensubstituiertes Alkoxy mit 1 oder 2 Kohlenstoffatomen ist und  $R_4$  ein  $C_1$ - $C_4$ -Alkyl oder  $C_3$ - $C_4$ -Cycloalkyl, insbesondere  $CH_3$  ist
- (D)  $R_1$  Wasserstoff ist,  $R_2$  und  $R_3$  zusammen 3',4'-Methyldendioxy und  $R_4$  ein  $C_1$ - $C_4$ -Alkyl oder  $C_3$ - $C_4$ -Cycloalkyl, insbesondere  $CH_3$  ist,

oder eines Derivats davon mit offenkettigen Isoxazolring oder eines physiologisch verträglichen Salzes der genannten Substanzen, beispielsweise eines Alkalimetall-, eines Ammonium- oder substituierten Ammoniumsalzes, insbesondere des Natriumsalzes oder des Salzes einer basischen Aminosäure wie Lysin, zur Herstellung eines Mittels zur Prävention oder

- 4 -

Behandlung von Infektionen mit Hepatitis-Viren, HI-Viren, Viren der Paramyxogruppe oder/und der Orthomyxogruppe.

Die Verbindungen der Formel I lassen sich unter Leflunomide einordnen.  
5 Leflunomid bezeichnet eine Substanzgruppe von N-(4-Trifluormethylphenyl)-  
5-methylisoxazol-4-carboxamiden, die ursprünglich als Herbizide in der  
Landwirtschaft zum Einsatz kamen. Für sie wurde mittlerweile auch eine  
entzündungshemmende und immunsuppressive Wirkung festgestellt, sodass  
ihr Einsatz, insbesondere bei Transplantationspatienten, zur Unterdrückung  
10 einer Transplantatabstoßung möglich erscheint. Eine antivirale Aktivität für  
Leflunomide oder seine Derivate wurde bisher jedoch nicht berichtet.

Es war überraschend, dass die erfindungsgemäß verwendeten Substanzen  
neben einer Herbizidaktivität und einer entzündungshemmenden sowie einer  
15 immunsuppressiven Wirkung auch eine gute antivirale Wirksamkeit  
insbesondere gegen Hepatitis-B-Viren, HI-Viren, Viren der Paramyxogruppe  
und der Orthomyxogruppe zeigen.

Die erfindungsgemäß erhaltenen Mittel mit Substanzen gemäß Formel I oder  
20 offenkettigen Derivaten oder Salzen davon als Wirkstoffe zeichnen sich  
durch ihre hohe Wirksamkeit aus, sodass bereits geringe Mengen für eine  
erfolgreiche Behandlung ausreichend sind. Andererseits sind die Substanzen  
gut verträglich, sodass die in dem erfindungsgemäß erhaltenen Mittel ver-  
wendete Dosis nicht durch nachteilige Nebenwirkungen beschränkt wird.  
25 Darüber hinaus sind die erfindungsgemäß verwendeten Substanzen  
unproblematisch in ihrer Herstellung und somit in großen Mengen leicht und  
kostengünstig verfügbar.

In der Substanz gemäß Formel I liegt der Isoxazolring geschlossen oder  
30 offen vor. Nach Einnahme eines erfindungsgemäß erhaltenen Mittels, das  
die Substanz gemäß Formel I mit geschlossenem Isoxazolring beinhaltet,  
kann diese im Körper metabolisiert und der Isoxazolring geöffnet werden,

- 5 -

wodurch eine physiologisch wirksamere Form der Substanz (Grundstruktur: N-(4-Trifluoromethylphenyl)-2-cyano-3-hydroxycrotonamid (A771726)) entsteht.

5 Das erfindungsgemäß erhaltene Mittel kann weiterhin übliche Träger-, Hilfs- oder/und Zusatzstoffe enthalten, die dem Fachmann bekannt sind und deshalb nicht explizit genannt werden müssen. Besonders bevorzugt sind Träger-, Hilfs- oder/und Zusatzstoffe, die die Lagerfähigkeit, die Resorption, Kinetik oder/und die Verträglichkeit des erfindungsgemäßen Mittels erhöhen.

10

Vorzugsweise enthält das Mittel weiterhin mindestens ein Pyrimidin, vorzugsweise Uridin, Cytidin oder/und Thymidin. Durch die Verwendung von Pyrimidinen in dem erfindungsgemäßen Mittel wird die Verträglichkeit für die verwendete Substanz weiter erhöht und mögliche Nebenwirkungen können vermindert werden. Darüber hinaus wird es dadurch möglich, die Dosis der erfindungsgemäß verwendeten Substanz zu erhöhen. Somit kann auch eine schwerwiegende Virusinfektion wirksam bekämpft werden. Der Gehalt des Pyrimidins kann bis zu 90 Gew.-% betragen, bevorzugt 5 bis 70 Gew.-%, mehr bevorzugt 10 bis 60 Gew.-% und am meisten bevorzugt 30 bis 40 Gew.-%.

20

In bevorzugten Ausführungsformen wird die Substanz zur Herstellung von Mitteln zur Bekämpfung, d.h. Prävention oder Behandlung von Infektionen mit Viren aus der Gruppe Hepatitis B-Virus, HIV-1 oder HIV-2-Virus, aviäres Paramyxovirus, Parainfluenzavirus, bevorzugt vom Typ 1, Mumps-Virus, Masern-Virus, Hundestaupe-Virus, Rinderpest-Virus, Pneumovirus und Influenzavirus, bevorzugt Influenza-A-Virus, verwendet.

25

Als Substanz für das Mittel werden beispielsweise (A) N-(4-Trifluoromethylphenyl)-5-methylisoxazol-4-carboxamid, (B) die Form mit offenem Isoxazolring von (A) N-(4-Trifluormethylphenyl)-2-cyano-3-hydroxycroton-

30

- 6 -

amid, (C) ein Natriumsalz oder Lysinsalz von N-(4-Trifluormethylphenyl)-2-cyano-3-hydroxy-crotonamid oder/und ein Gemisch davon verwendet.

5 Der Gehalt der Substanz gemäß Formel I in dem erfindungsgemäßen Mittel kann je nach dem zu behandelnden Virustyp und gegebenenfalls der Schwere der Virusinfektion ausgewählt und angepaßt werden.

Das erfindungsgemäß hergestellte Mittel wird im allgemeinen in solcher Menge verabreicht, die 0,01 bis 1000 mg/Tag, bevorzugt 0,1 bis 10 100 mg/Tag an Substanz entspricht, abhängig von der Proteinbindung der jeweiligen Substanz.

In einer weiteren Ausführungsform kann das Mittel weitere antiviral wirksame Substanzen enthalten. Vorteilhaft ist die Auswahl von Substanzen, die die gleiche Virustypspezifität wie die erfindungsgemäß 15 verwendete Substanz haben. Dies hat den Vorteil, dass die Wirksamkeit gegenüber einem bestimmten Virustyp, gegebenenfalls durch synergistische Effekte der Substanzen erhöht werden kann. Gegebenenfalls zeigt diese Substanz eine andere Virustyp-Spezifität als die erfindungsgemäße 20 Substanz, so daß andererseits neben dem Primärvirus gleichzeitig auch Sekundärvirus-Infektionen bekämpft werden können.

Das erfindungsgemäß hergestellte Mittel kann in jeder geeigneten Darreichungsform zubereitet werden. Vorzugsweise wird das Mittel in Form einer 25 Tablette, einer Retardtablette, eines Dragees, einer Kapsel, eines Granulats, einer Ampulle, einer Infusionslösung, einer Injektionslösung oder eines Konzentrats zur Herstellung einer Infusionslösung oder einer Injektionslösung zubereitet.

30 In einer weiteren Ausführungsform betrifft die Erfindung ein Verfahren zum Vermindern oder Inhibieren des Wachstums von Hepatitis-B-Viren, HI-Viren, Viren der Paramyxogruppe oder/und der Orthomyxogruppe in mit diesen



- 7 -

Viren infizierten Zellen, umfassend Inkontaktbringen der Zellen mit einer ausreichend wirksamen Menge einer erfindungsgemäßen Substanz, um die Virusvermehrung zu verlangsamen oder zu inhibieren.

- 5 In einer bevorzugten Ausführungsform dieses Verfahrens wird das Vermindern bzw. Inhibieren des Wachstums oder der Vermehrung der Viren durch eine Verlangsamung oder Inhibierung der Virusassemblierung erreicht.

- 10 Die wirksame Menge einer erfindungsgemäßen Substanz wird dabei an den jeweiligen Virustyp und die infizierten Zellen in geeigneter Weise angepasst. Im Allgemeinen liegt die wirksame Menge der Substanz in einer Konzentration von 1 bis 1000  $\mu$ M.

- 15 In noch einer weiteren Ausführungsform betrifft die Erfindung ein Verfahren zum Nachweis eines Hepatitis-B-Virus, eines HI-Virus oder eines Virus der Paramyxogruppe oder der Orthomyxogruppe in Zellen, das dadurch gekennzeichnet ist, dass 1. zu Patientenzellen in Kultur eine Substanz gemäß Formel I zu dem Kulturmedium zugegeben wird und 2. cytopathische oder zellverändernde Effekte im Vergleich mit einer Kontrollkultur ohne  
20 Zugabe dieser Substanz gemessen werden. Dieses Verfahren hat den Vorteil, dass durch einfache visuelle Kontrolle ein Nachweis der oben genannten Viren möglich ist.

- 25 In einer weiteren Ausführungsform betrifft die Erfindung ein Verfahren zur prophylaktischen oder therapeutischen Behandlung von Infektionen durch Hepatitis-B-Viren, HI-Viren, Viren der Paramyxogruppe oder/und der Orthomyxogruppe durch Verabreichung eines Mittels an einen Patienten, das eine Substanz der allgemeinen Formel I enthält. Die Menge der Substanz wird an den jeweils vorliegenden Virus-Typ und die Schwere der Virusinfek-  
30 tion angepasst. Zweckmäßig wird dem Patienten eine Tagesdosis von 0,01 bis 1000 mg, bevorzugt 0,1 bis 100 mg der Substanz verabreicht. Die Verabreichung des erfindungsgemäß erhaltenen Mittels kann auf jede geeignete

- 8 -

Weise erfolgen, wobei bevorzugt eine systemische Applikation durch z.B. orale, intravenöse, intramuskuläre oder subkutane Applikation erfolgt. Das Mittel mit der Substanz kann dem Patienten auch in Form eines Aerosols verabreicht werden. Eine andere mögliche Art der Applikation ist topisch,  
5 z.B. in Form von Tropfen, Cremes, Pflaster oder Suppositorien.

Als Substanz werden (A) N-(4-Trifluormethylphenyl)-5-methylisoxazol-4-carboxamid, (B) die Form mit offenem Oxazolring von (A) N-(4-Trifluormethylphenyl)-2-cyano-3-hydroxycrotonamid, (C) ein Natrium- oder Lysinsalz  
10 von N-(4-Trifluormethylphenyl)-2-cyano-3-hydroxy-crotonamid oder Gemische davon bevorzugt.

Um die Wirksamkeit oder/und die Verträglichkeit der Substanz gemäß Formel I weiter zu erhöhen, kann das erfindungsgemäße Mittel weiterhin  
15 mindestens ein Pyrimidin, vorzugsweise Uridin, Cytidin oder/und Thymidin enthalten.

Die Substanz gemäß Formel I bzw. das Derivat mit geöffnetem Isoxazolring oder das Salz davon kann zusammen mit weiteren antiviral wirksamen  
20 Mitteln verabreicht werden, wobei dies gleichzeitig oder nacheinander erfolgen kann. Beispiele für weitere antiviral wirksame Substanzen beinhalten Aciclovir, Ganciclovir, Vidaravidin, Foscarnet, Cidofovir, Amantadin, Ribavirin, Trifluorthymidin, Interferon- $\alpha$ , Cidovudin, Didanosin oder Calcitabin.

25

Die Erfindung wird durch die folgenden Figuren und Beispiele weiter erläutert.

In den Figuren zeigt:

30

Figur 1 die Verminderung des cytopathischen Effekts (CPE) von HIV-1 bei C8166-Zellen durch die Substanzen N-(4-Trifluormethyl-

- 9 -

phenyl)-5-methylisoxazol-4-carboxamid (A), der metabolisier-  
ten, aktiven offenen Ringform von (A) N-(4-Trifluormethylphe-  
nyl)-2-cyano-3-hydroxycrotonamid (B) und dessen Natriumsalz  
N-(4-Trifluormethylphenyl)-2-cyano-3-hydroxycrotonamid (C)  
in verschiedenen Verdünnungen,

Figur 2 den Einfluss der Substanzen A, B und C in verschiedenen Ver-  
dünnungen auf die Ausbildung des CPE (Syncytien-Bildung),

Figur 3, Figur 4 und Figur 5 die Auswirkung von N-(4-Trifluormethyl  
phenyl)-5-methylisoxazol-4-carboxamid in verschiedenen  
Verdünnungen zu unterschiedlichen Zeitpunkten (Tag 2-5, 5-9  
bzw. 9-12) auf die Enten-Hepatitis-B-Virus-Produktion in  
primären Entenhepatozyten.

Figur 6 den Einfluss einer Verabreichung der Substanz A vor Infektion  
auf die Enten-Hepatitis-B-Virus-Produktion in primären Enten-  
hepatozyten.

#### Beispiel 1

Testprinzip: Durchführung von Infektionsreihen von C8166-Zellen mit HIV-  
1 und anschließende Auswertung des cytopathischen Effekts  
(CPE = Riesenzellbildung durch virusbedingte Zellverschmel-  
zungen (Syncytien)), wobei jeweils eine Virus-Verdünnungs-  
reihe ohne Substanz als Kontrolle verwendet wurde. Bei diesen  
Experimenten wurden die Infektionen mit HIV jeweils ohne  
Substanz in einem Falcon-Röhrchen durchgeführt, nach 1  
Stunde Adsorption wurde abzentrifugiert und gewaschen, um  
die Zellen dann auf die Platte auszubringen. Das Waschen  
verringert die Zahl der ungebundenen Viren im Überstand auf  
ca. 100/ml. Auf der Platte sind weitere Indikatorzellen und  
Medium mit entsprechender Substanz vorgelegt.

- 10 -

Zelllinie: C8166, humane T-Lymphozyten, Indikatorzelllinie für HIV-1

Virus: HIV-1 stammte aus dem Kulturüberstand von infizierten H9 Zellen (Isolat aus einem männlichen homosexuellen Münchner; zur Verfügung gestellt von Herrn Prof.L. Gürtler, München).

Virustiter: ca.  $3 \times 10^3$  -  $1,6 \times 10^4$ /ml (festgestellt über CPE nach 3-4 Tagen)

Der cytopathische Effekt wurde jeweils nach 3-4 Tagen ausgewertet.

Testsubstanzen:

A = N-(4-Trifluormethylphenyl)-5-methylisoxazol-4-carboxamid

B = metabolisierte, aktive offene Ringform von (A): N-(4-Trifluormethylphenyl)-2-cyano-3-hydroxycrotonamid

C = das Natriumsalz von B: N-(4-Trifluormethylphenyl)-2-cyano-3-hydroxy-crotonamid

Der Test wurde für Substanz A auf 24-Well-Platten durchgeführt, alle weiteren Tests wurden auf 48-Well-Platten durchgeführt. Die Zahl der eingesetzten C8166 Zellen war ca.  $10^3$ - $10^4$ /Well. Die erste Spalte der Platte blieb virusfrei; die weiteren Spalten enthalten von links nach rechts HIV-1 Überstand in zunehmender Verdünnung (1:5, 1:25, 1:125, 1:625, 1:3125, 1:15625; 1:78125). Die erste Zeile der Platte war in der Regel der Kontrollverdünnungsreihe vorbehalten, in den weiteren Reihen wurden die entsprechenden Substanzen ins Medium gegeben (EK im Medium: 100  $\mu$ M, 50  $\mu$ M und 20  $\mu$ M). Nach drei bis vier Tagen, wenn der cytopathische Effekt in der Kontrollreihe voll ausgebildet war, wurden die Syncytien in jedem Well ausgewertet.

**Ergebnisse:**

Substanz A: Rückgang des CPE um den Faktor 5 bis 25; es ist keine deutliche Konzentrationsabhängigkeit zu erkennen.

5 Substanz B: Rückgang des CPE um den Faktor 25 bis 125; es ist nur eine schwache Konzentrationsabhängigkeit zu erkennen.

Substanz C: Rückgang des CPE um den Faktor 5 bis 125; es ist nur eine schwache Konzentrationsabhängigkeit zu erkennen.

Diese Ergebnisse sind in Figur 1 dargestellt.

10 Durch die erfindungsgemäße Verwendung der Substanzen A, B bzw. C konnte jeweils eine deutliche reproduzierbare Verringerung des cytopathischen Effekts von HIV-1 Viren auf C8166 Indikatorzellen festgestellt werden.

15 Beispiel 2

**Verminderung des cytopathischen Effekts von HIV-1 (IIIb) auf C8166-Zellen durch die Substanzen A, B und C**

Testprinzip: Durchführung von Infektionsreihen von C8166-Zellen mit HIV-1 und anschließender Auswertung des cytopathischen Effekts.

20 Eine Virus-Verdünnungsreihe wurde als Kontrollwert verwendet, wobei jeweils eine Virus-Verdünnungsreihe pro getesteter Substanz angesetzt wurde.

Zelllinie: C8166, humane T-Lymphozyten, Indikatorzelllinie für HIV-1

Virus: HIV-1 (HIV IIIb) stammte aus dem Kulturüberstand von infizierten HUT78 Zellen;

25 Virustiter: ca.  $5 \times 10^2$  -  $1 \times 10^3$ /ml

Testsubstanzen: A, B, C (50 mM), wurden in einer 1:500 Verdünnung verwendet.

30 A = N-(4-Trifluormethylphenyl)-5-methylisoxazol-4-carboxamid  
B = metabolisierte, aktive offene Ringform von (A) N-(4-Trifluormethylphenyl)-2-cyano-3-hydroxycrotonamid

- 12 -

C = das Natriumsalz von (B) N-(4-Trifluormethylphenyl)-2-cyano-3-hydroxy-crotonamid

Der Test wurde auf 24-Well-Platten durchgeführt. Die Zahl der eingesetzten  
5 C8166-Zellen war ca.  $10^3$ - $10^4$ /Well. Die erste Spalte der Platte blieb  
virusfrei; die weiteren Spalten enthalten von links nach rechts HIV IIIb  
Überstand in zunehmender Verdünnung (1:5, 1:25, 1:125, 1:625; 1:3125).  
Die erste Reihe der Platte war jeweils der Kontrollverdünnungsreihe  
vorbehalten, in den weiteren drei Reihen wurden die Substanzen A, B und  
10 C ins Medium gegeben. Nach drei Tagen, wenn der CPE in der Kontrollreihe  
voll ausgebildet war, wurden die Syncytien in jedem Well ausgezählt. Der  
Versuch wurde dreimal wiederholt. Figur 2 zeigt die gemittelten Werte.

Das Ergebnis zeigt deutlich, dass die Syncytienbildung von HIV-1 IIIb bei  
15 C8166-Zellen durch Anwendung der erfindungsgemäßen Substanzen um  
einen Faktor von ca. 100 unterdrückt wird. Aufgrund des geringen  
Virustiters sind die erhaltenen Werte jedoch an der Auflösungsgrenze des  
Tests.

### 20 Beispiel 3

#### **Verringerung der Vermehrung von Ortho- und Paramyxoviren durch die Substanzen A, B und C**

Testprinzip: Durchführung von Infektionen von Zellen in Gegenwart der  
einzelnen Substanzen und Quantifizierung der freigesetzten  
25 Viren durch HA-Test (Orthomyxoviren) bzw. TCID-Test  
(Paramyxoviren). Zusätzliche mikroskopische Beurteilung des  
durch die Substanzen allein oder durch Viren in Gegenwart der  
Substanzen ausgelösten cytopathischen Effekts (CPE).

Viren: Influenza A Virus, 2560 HA/ml; Parainfluenza Typ 1 (Sendai)  
30 Virus,  $6,4 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>/ml;

Zelllinien: MDCK-Zellen für Influenza A Viren; MCF-10A Zellen und HeLa-  
Zellen für Sendai-Viren;

- 13 -

Experiment: Zellen in 6-Well-Platten wurden mit 128 HA Influenza A Virus,  $1,6 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub> Sendai-Virus für zwei Stunden infiziert; nicht aufgenommene Viren wurden durch Waschen entfernt und die Zellen in Serum-freien Medium in Gegenwart der Testsubstanzen für 24 oder 48 Std. inkubiert; anschließend wurde die Anzahl der in den Zellkulturüberstand freigesetzten Viren im HA- bzw. TCID<sub>50</sub>-Test bestimmt.

Ergebnisse: In mehreren unabhängigen Versuchsreihen konnte eine Reduktion der Replikation von Ortho- und Paramyxoviren in Abhängigkeit von der Konzentration der eingesetzten Substanzen (z.B. Substanz B) festgestellt werden:

Substanz B ( $\mu$ M)	0	20	40	60	80	100
Sendai-Virus (TCID <sub>50</sub> /ml)	640	320	320	160	80	60
Influenza Virus (HA/ml)	40	40	20	20	10	5

Die Substanz B zeigte eine um den Faktor 2 bessere Hemmung der Virusreplikation im Vergleich zu den Substanzen A und C.

In Gegenwart der Substanz B verringerte sich der durch die Virusinfektion bedingte CPE auf 90 % - 75 % gegenüber der Positivkontrolle, insbesondere die Veränderung der Zellform in Richtung "spindelförmig" war reduziert.

#### Beispiel 4

**Verringerung der Duck Hepatitis B Virus (DHBV) Sekretion aus primären Entenhepatozyten durch N-(4-Trifluormethylphenyl)-5-methylisoxazol-4-carboxamid (Substanz A).**

**Methoden:** Ein Entenküken wurde einen Tag nach dem Schlüpfen intravenös mit 200  $\mu$ l Entenserum injiziert, das  $10^{10}$  DHBV DNA-Genomäquivalente/ml enthielt. Zwei Wochen nach Infektion wurden primäre Enten-Hepatozyten (PDH) wie beschrieben präpariert und kultiviert (JV (1986) 58, 17-251; JV (1992) 66, 2829-2836): Hepatozyten wurden durch Zwei-Schritt

- 14 -

Collagenase-Perfusion isoliert und in 6-Well-Platten mit ca.  $10^6$  Zellen/Well ausgesät. Die Zellen wurden bei 37 °C in 5 % CO<sub>2</sub> in William's Medium E (Gibco BRL) gehalten, das mit Gentamycin (50 µg/ml), L-Glutamin (2,25 mM), Glucose (0,06 %), HEPES pH 7,4 (23 mM), Hydrocortison (4,8 µg/ml), Inosin (1 µg/ml), Penicillin (50 IU/ml), Streptomycin (50 µg/ml) und Dimethylsulfoxid (1,7 %) supplementiert worden war. Ein Mediumwechsel erfolgte an den Tagen 2, 5, 9 und 12 nach Ausplattieren.

Die Substanz A wurde am Tag 5 bzw. am Tag 9 nach dem Plattieren zugegeben. Die Kulturüberstände wurden am Tag 5, 9 und 12 nach dem Plattieren gesammelt. Pro Well wurde ein Viertel des Kulturmediums (entspricht  $2,5 \times 10^5$  Zellen) mit Hilfe von Dot-Blot-Hybridisierung relativ zu einem DNA-Standard analysiert. Ein linearisiertes Plasmid, das eine Kopie des DHBV-Genoms trägt, wurde mit "random priming" auf eine spezifische Aktivität von etwa  $10^8$  lpm/µg markiert und als Sonde zur Hybridisierung eingesetzt. Die Quantifizierung der Signale erfolgte mit einem Molecular Dynamics Phosphorimager.

#### Erläuterung zu den Figuren:

Figur 3 zeigt den DNA-Dot-blot der PDH-Überstände. PDH wurden mit Substanz A gelöst in DMSO (comp. A, comp. A rev) in den angezeigten Konzentrationen 5 Tage nach dem Plattieren behandelt. Als Kontrolle wurde DMSO alleine getestet. Am Tag 9 nach dem Plattieren wurde frisches Medium mit (comp. A) oder ohne Substanz A (comp. A rev) zu den Zellen gegeben. Der DNA-Standard, der zur Umrechnung der Daten in das Diagramm von Figur 4 diente, ist ebenfalls gezeigt. Die Zahlen in Figur 4 repräsentieren die Medianwerte aus 3 (A rev), 6 (unbehandelt d9, unbehandelt d12) oder 12 individuellen Wells (unbehandelt d5, A), von denen der unspezifische Hintergrund ( $7,7 \times 10^6$  DNA Äquivalente/ml) bereits abgezogen wurde. "d2-5" steht für Überstände, die am Tag 5 gesammelt wurden, "d5-9" am Tag 9 und "d9-12" am Tag 12.



- 15 -

Das Diagramm eines Dot-blots mit Überständen von PDH, die mit Substanz A in Konzentrationen von 5 bis 200  $\mu\text{M}$  behandelt wurden, ist in Figur 5 dargestellt. Zahlen repräsentieren hier Medianwerte von zwei (mit A behandelt) oder drei (unbehandelt) individuellen Wells, der unspezifische Background entsprach  $4,3 \times 10^6$  DNA Äquivalenten/ml.

### Ergebnisse:

Die Virusabgabe der unbehandelten PDH war in den ersten Tagen nach Plattierung niedrig, stieg jedoch bei Tag 12 auf  $3,8 \times 10^8$  DNA Äquivalente/ml an (Fig. 4 (-), vgl. d2-5, d5-9, d9-12). Im Gegensatz dazu verblieb die Produktion von Nachkommenviren in PDH, die mit 20 oder 50  $\mu\text{M}$  Substanz A behandelt worden waren, selbst am Tag 12 auf dem niedrigen Anfangsniveau von 5 bzw.  $7 \times 10^7$  DNA Äquivalenten/ml (Fig. 4 20  $\mu\text{M}$  A, 50  $\mu\text{M}$  A). Vergleichbare Ergebnisse wurden in einem Konzentrationsbereich von 5  $\mu\text{M}$  bis 200  $\mu\text{M}$  A (Fig. 5) erzielt. Das Entfernen von Substanz A am Tag 9 (Fig. 4 A rev) führte zu höherer Virusfreisetzung zwischen Tag 9 und 12 im Vergleich zu weiterhin behandelten Zellen (Fig. 4 A), was darauf hinweist, dass die Wirkung von Substanz A reversibel ist. Zusammenfassend zeigte sich, dass Substanz A den Anstieg an Virussekretion verhinderte, der bei nicht behandelten Zellen ungefähr 1,5 Wochen nach Plattierung beobachtet wird.

### Beispiel 5

**N-(-4-trifluormethylphenyl)-5-methylisoxazol-4-carboxamid (Substanz A) interferiert mit der Infektion von primären Entenhepatozyten durch Duck Hepatitis B Virus (DHBV)**

### Methoden:

Primäre Enten-Hepatozyten (PDH) eines zwei Wochen alten Entenkükens wurden wie beschrieben präpariert und kultiviert (siehe Beispiel 4). Substanz A wurde am Tag 6 nach dem Plattieren zugegeben. Am Tag 7 nach dem Plattieren wurden die Zellen mit  $1 \times 10^8$  DHBV DNA Äquivalenten pro  $1 \times 10^6$

- 16 -

Zellen für 12 h infiziert, nach Entfernung der nicht-aufgenommenen Viren wurde erneut Substanz A zugegeben. Am Tag 9 nach Plattierung erfolgte ein Mediumwechsel mit erneuter Substanz-Zugabe, am Tag 12 nach Plattierung (entspricht Tag 6 nach Infektion) wurden die Zellkulturüberstände gesammelt. Pro Well wurde ein Viertel des Kulturmediums (entspricht  $2,5 \times 10^5$  Zellen) mit Hilfe von Dot-Blot-Hybridisierung relativ zu einem DNA-Standard analysiert. Ein linearisiertes Plasmid, das eine Kopie des DHBV-Genoms trägt, wurde mit "random priming" auf eine spezifische Aktivität von etwa  $10^8$  lpm/ $\mu$ g markiert und als Sonde zur Hybridisierung eingesetzt. Die Quantifizierung der Signale erfolgte mit einem Molecular Dynamics Phosphoimager.

Die Zellen wurden mit 100% Methanol fixiert und mit polyklonalen Kaninchen-Antiseren gegen DHBV core Protein oder DHBV preS Protein inkubiert. Das Binden des ersten Antikörpers an Antigen wurde mit einem Ziege-Anti-Kaninchen Fluorescein Thioisocyanat konjugierten Zweitantikörper (Dianova, Hamburg) detektiert.

#### Erläuterung zu der Figur:

Figur 6 zeigt in Diagramm-Form die Ergebnisse des DNA Dotblots mit den PDH-Überständen 6 Tage nach Infektion. Die Zellen wurden mit 20 oder 50  $\mu$ M Substanz A (A20, A50) oder DMSO (DMSO) einen Tag vor Infektion vorbehandelt. Die Balken repräsentieren Mittelwerte aus 6 individuellen Wells, der unspezifische Hintergrund entsprach  $7 \times 10^6$  DNA Äquivalenten/ml.

#### Ergebnisse:

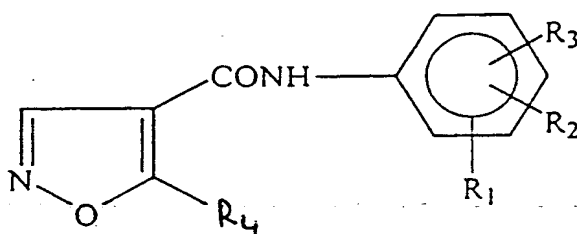
Die Vorbehandlung primärer Enten-Hepatozyten mit 20  $\mu$ M und 50  $\mu$ M Substanz A einen Tag vor Infektion führte zu einer deutlichen Reduktion der Virusausschüttung in den Zellkulturüberständen, gemessen durch DNA-Dotplot Analyse (Figur 6 vgl. no comp und A20 bzw. A50). Diese Verringerung der Virusvermehrung zeigte sich auch beim Anfärben der Zellen mit Capsid-

- 17 -

oder Envelope-Protein spezifischen Antikörpern. Die Replikation des Genoms und die Infektion weiterer Zellen sind in Anwesenheit von Substanz A deutlich reduziert.

## Ansprüche

## 1. Verwendung einer Substanz der allgemeinen Formel I



worin

- (A)  $R_1$  und  $R_2$  jeweils Wasserstoff sind,  $R_3$  ein Halogen,  $-CF_3$ , Alkoxy mit 1 oder 2 Kohlenstoffatomen oder ein halogensubstituiertes Alkoxy mit 1 oder 2 Kohlenstoffatomen ist, und  $R_4$  Alkyl mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen oder Cycloalkyl mit 3 oder 4 Kohlenstoffatomen ist,
- (B)  $R_1$  Wasserstoff ist und  $R_2$  und  $R_3$ , die gleich oder unterschiedlich sind, ein Halogen oder  $-CF_3$  sind, und  $R_4$  Alkyl mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen oder Cycloalkyl mit 3 oder 4 Kohlenstoffatomen ist,
- (C)  $R_1$  Wasserstoff ist,  $R_2$  Alkyl mit 1 oder 2 Kohlenstoffatomen ist,  $R_3$  ein Halogen ist und  $R_4$  Alkyl mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen oder Cycloalkyl mit 3 oder 4 Kohlenstoffatomen ist,
- (D)  $R_1$  Wasserstoff ist,  $R_2$  und  $R_3$  zusammen 3',4'-Methylenedioxy sind und  $R_4$  Alkyl mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen oder Cycloalkyl mit 3 oder 4 Kohlenstoffatomen ist,

oder eines Derivat davon mit offenem Isoxazolring oder eines physiologisch verträglichen Salzes davon, zur Herstellung eines Mittels zur Prävention oder Behandlung von Virusinfektionen durch Hepatitis-B-Viren, HI-Viren, Viren der Paramyxogruppe oder/und der Orthomyxogruppe.

2. Verwendung nach Anspruch 1,  
dadurch gekennzeichnet,  
dass das Mittel weiterhin übliche Träger-, Hilfs- oder/und Zusatzstoffe umfasst.
- 5 3. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
dass das Mittel weiterhin mindestens ein Pyrimidin umfasst.
- 10 4. Verwendung nach Anspruch 3,  
dadurch gekennzeichnet,  
dass das Pyrimidin ein Uridin, Cytidin oder/und Thymidin ist.
- 15 5. Verwendung nach Anspruch 1,  
dadurch gekennzeichnet,  
dass das HI-Virus ein HIV-1 oder HIV-2 Virus ist.
- 20 6. Verwendung nach Anspruch 1,  
dadurch gekennzeichnet,  
dass das Virus der Paramyxogruppe ein aviäres Paramyxovirus, ein Parainfluenzavirus, ein Mumps-Virus, ein Masern-Virus, ein Hundestaube-Virus, ein Rinderpest-Virus oder ein Pneumovirus ist.
- 25 7. Verwendung nach Anspruch 1,  
dadurch gekennzeichnet,  
dass das Virus der Orthomyxogruppe ein Influenza-Virus ist.
- 30 8. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
dass die Substanz von Formel I ausgewählt ist unter (A) N-(4-Trifluormethylphenyl)-5-methylisoxazol-4-carboxamid, (B) der Form mit offenem Oxazolring von (A) N-(4-Trifluormethylphenyl)-2-cyano-3-

- 20 -

hydroxycrotonamid, (C) dem Natriumsalz oder dem Lysinsalz von N-(4-Trifluormethylphenyl)-2-cyano-3-hydroxy-crotonamid oder Gemischen davon.

- 5      9.      Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
         d a d u r c h           g e k e n n z e i c h n e t ,  
         dass das Mittel wenigstens eine weitere antiviral wirksame Substanz  
         enthält.
- 10      10.      Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
         d a d u r c h           g e k e n n z e i c h n e t ,  
         dass das Mittel in Form einer Tablette, einer Retardtablette, eines  
         Dragees, einer Kapsel, eines Granulats, einer Ampulle, einer Infu-  
         sionslösung, einer Injektionslösung oder eines Konzentrats zur  
15      Herstellung einer Infusionslösung oder einer Injektionslösung  
         zubereitet wird.
11.      Verfahren zum Vermindern oder Inhibieren des Wachstums von  
         Hepatitis-B-Viren, HI-Viren, Viren der Paramyxogruppe oder/und der  
20      Orthomyxogruppe in mit diesen Viren infizierten Zellen, umfassend  
         Inkontaktbringen der Zellen mit einer ausreichend wirksamen Menge  
         einer Substanz der allgemeinen Formel I nach Anspruch 1 oder einem  
         Derivat davon mit offenem Oxazolring, um die Virusvermehrung zu  
         verlangsamen oder zu inhibieren.
- 25      12.      Verfahren zur Prävention oder Behandlung einer Infektion von  
         Hepatitis-B-Viren, HI-Viren, Viren der Paramyxogruppe oder/und der  
         Orthomyxogruppe durch Verabreichung einer ausreichend wirksamen  
         Menge einer Substanz der allgemeinen Formel I nach Anspruch 1  
30      oder einem Derivat davon mit offenem Oxazolring.

- 21 -

13. Verfahren zum Nachweis eines Hepatitis-Virus, eines HI-Virus oder eines Virus der Paramyxogruppe oder der Orthomyxogruppe in Zellen, dadurch gekennzeichnet,

dass

5

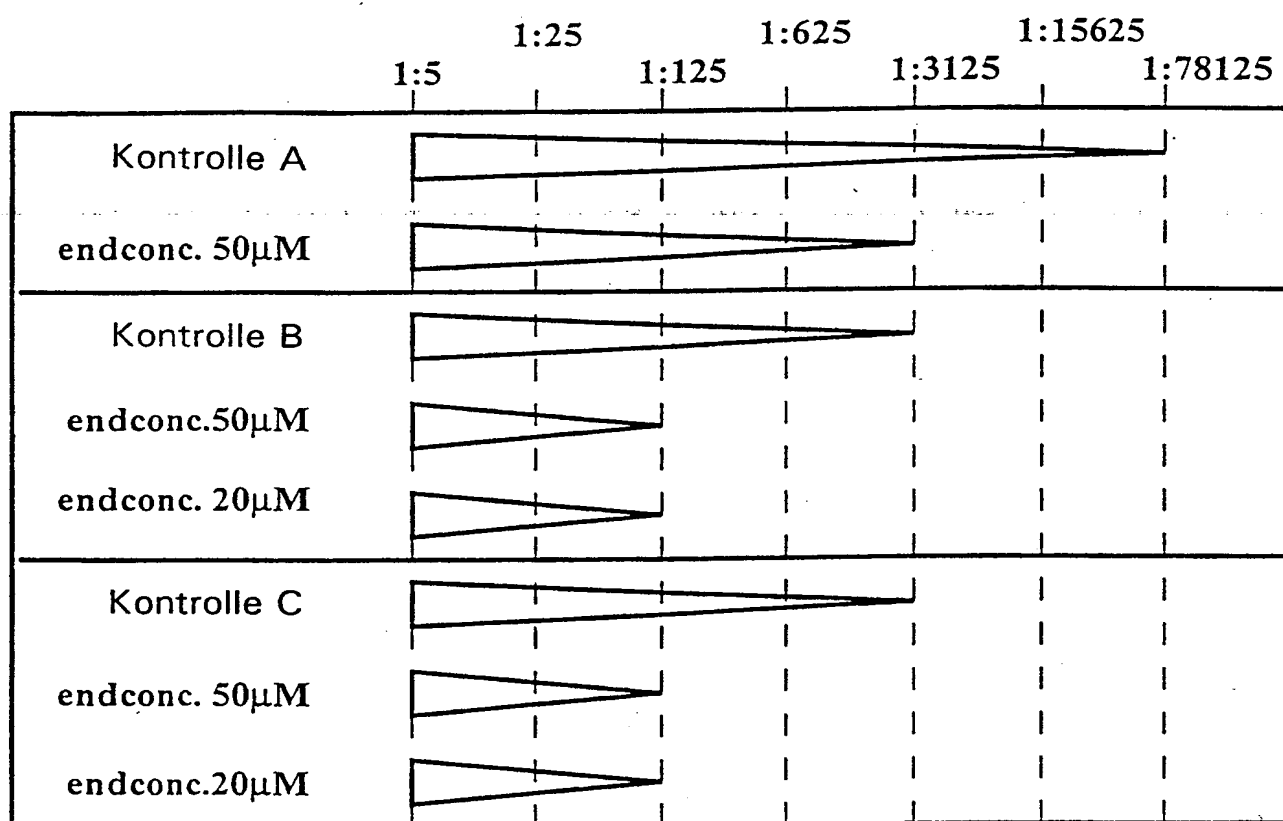
1. zu Patientenzellen in Kultur eine Substanz gemäß Formel I von Anspruch 1 oder ein Derivat davon mit offenem Oxazolring zu dem Kulturmedium gegeben wird, und

2. cytopathische oder zellverändernde Effekte im Vergleich mit einer Kontrollkultur ohne Zugabe dieser Substanz gemessen werden.

10

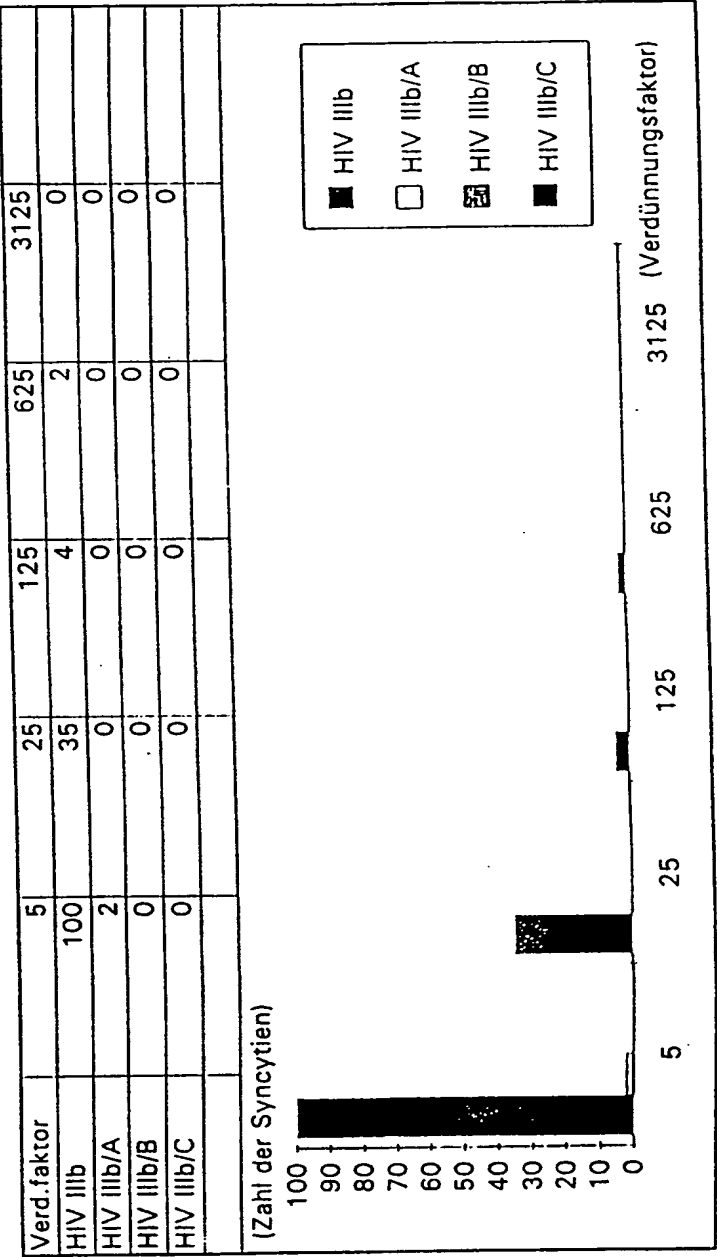
1/6

Figur 1

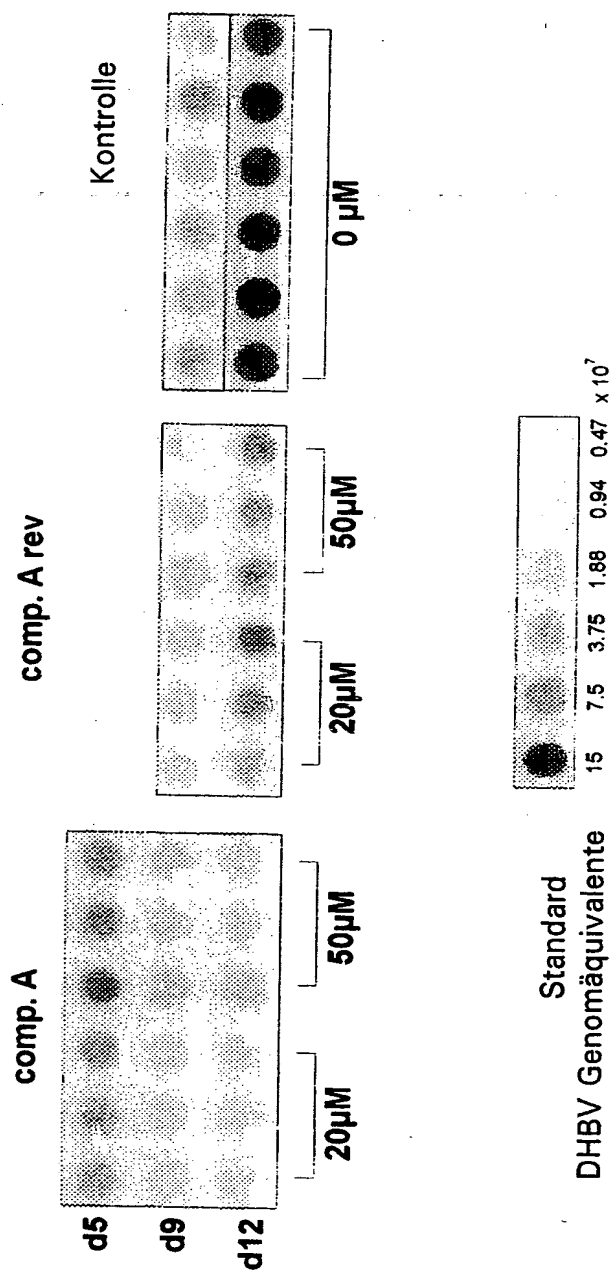




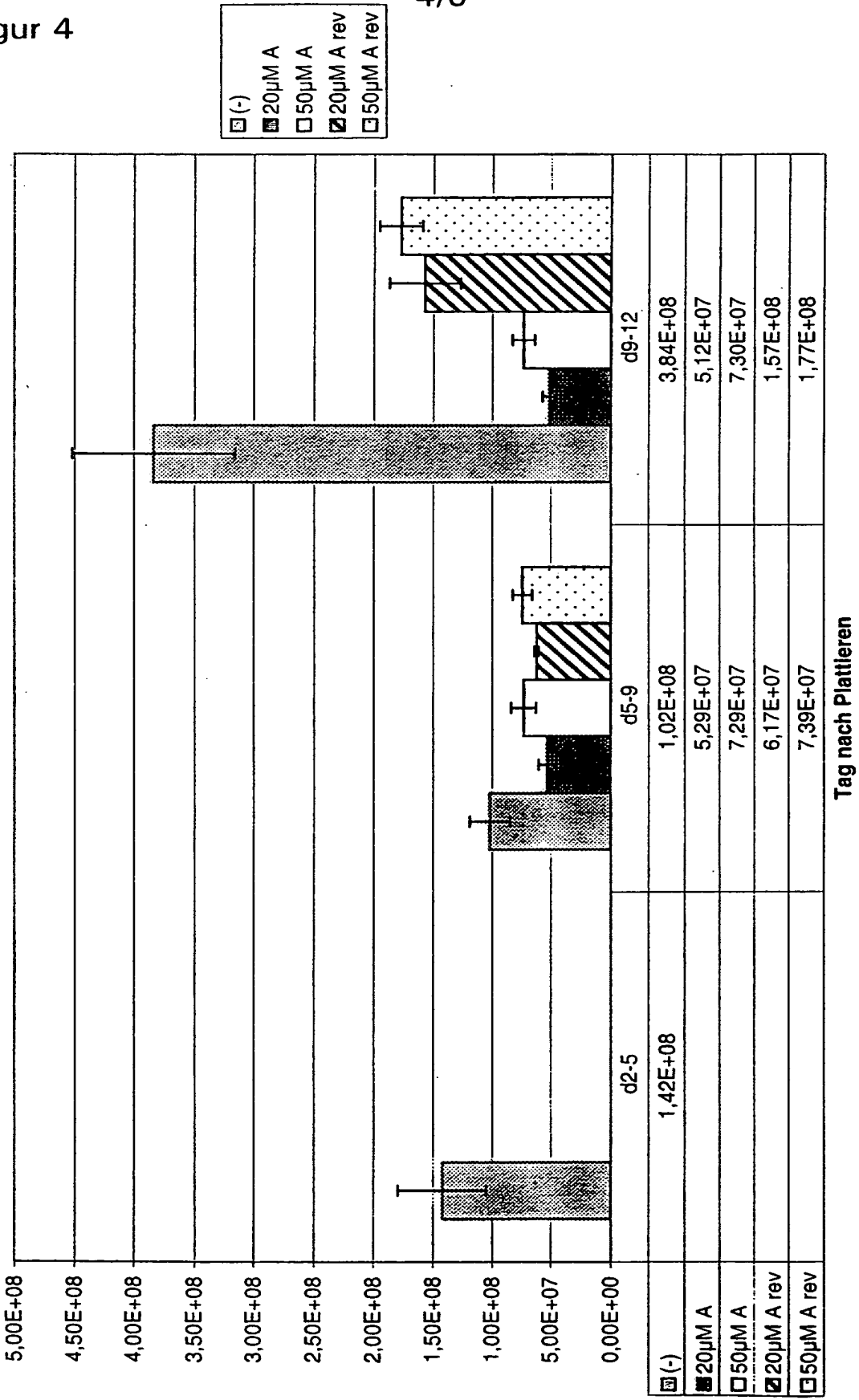
Figur 2



Figur 3



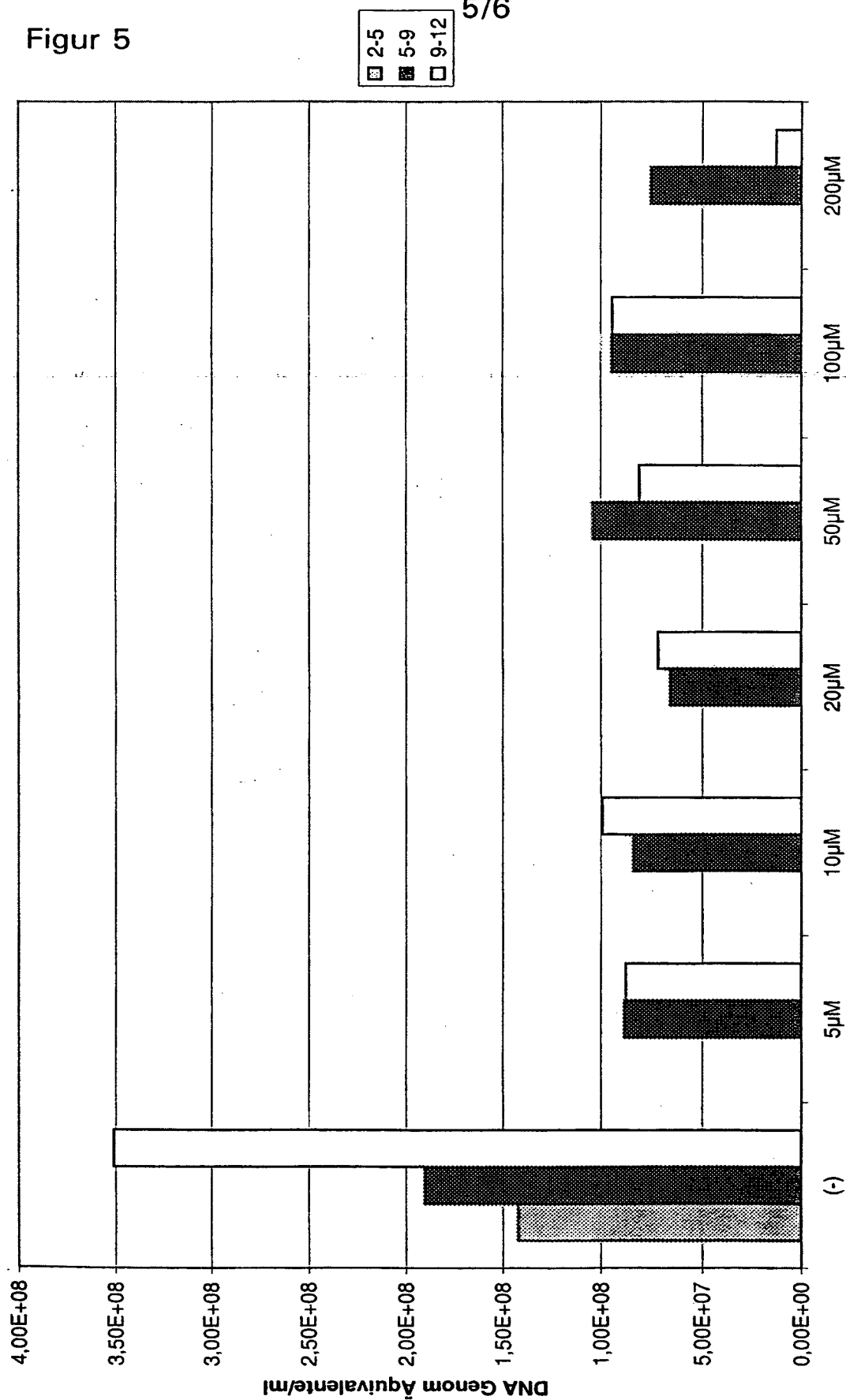
Figur 4



ERSATZBLATT (REGEL 26)  
DHBV Genom Äquivalente/ml

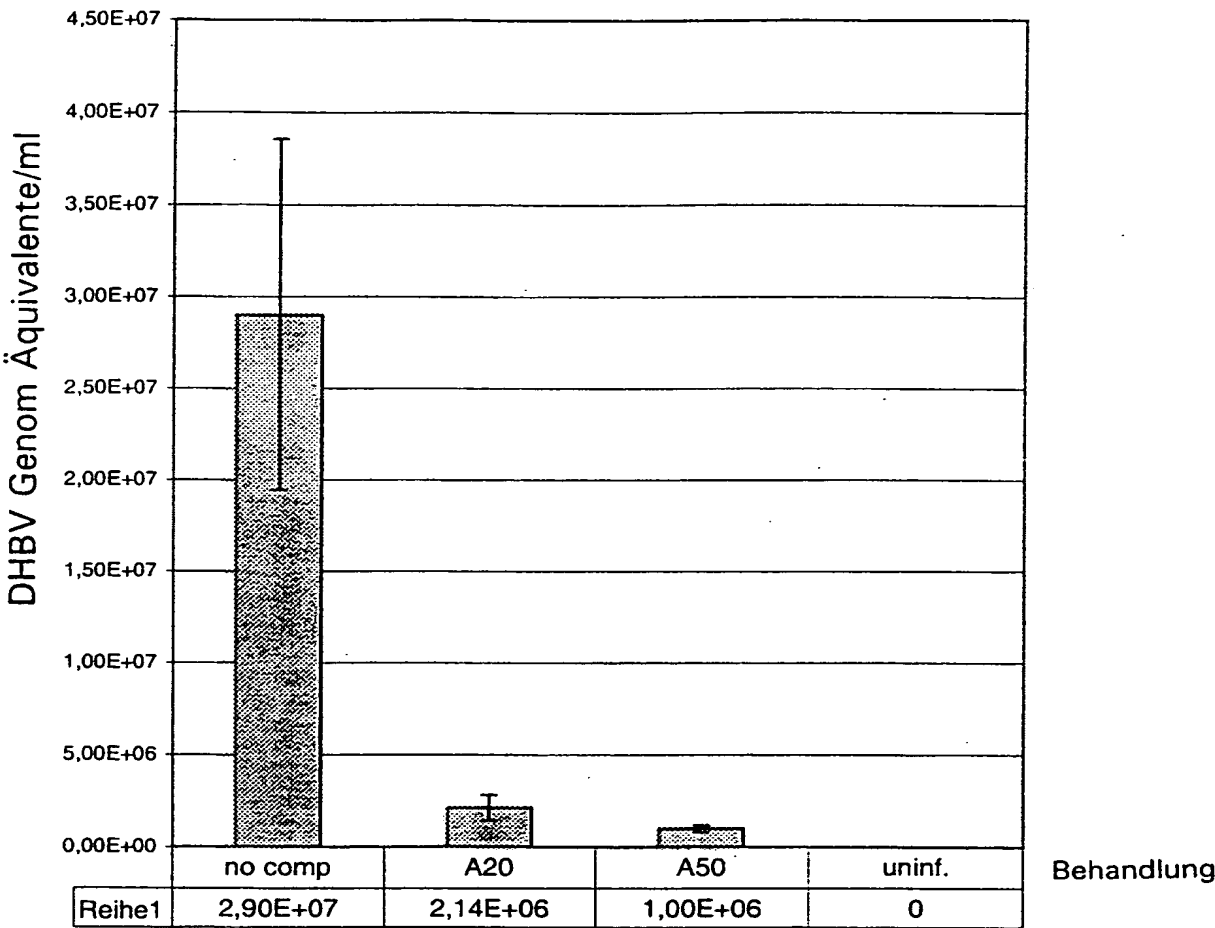
Figur 5

5/6



ERSATZBLATT (REGEL 26)

Figur 6



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**PCT**WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<b>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>7</sup> :</b> <b>A61K 31/42, A61P 31/12, 31/14, 31/16</b>		<b>A3</b>	<b>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/40242</b>
		<b>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:</b>	<b>13. Juli 2000 (13.07.00)</b>
<b>(21) Internationales Aktenzeichen:</b> PCT/EP99/10463		<b>(81) Bestimmungsstaaten:</b> AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).	
<b>(22) Internationales Anmeldedatum:</b> 29. Dezember 1999 (29.12.99)			
<b>(30) Prioritätsdaten:</b> 198 60 802.0      30. Dezember 1998 (30.12.98)      DE			
<b>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US):</b> AXXIMA PHARMACEUTICALS AG [DE/DE]; Am Klopferspitz 19, D-82152 Martinsried (DE).			
<b>(72) Erfinder; und</b>		<b>Veröffentlicht</b>	
<b>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US):</b> ULLRICH, Axel [DE/DE]; Am Klopferspitz 18a, D-82152 Martinsried (DE).		<i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i>	
<b>(74) Anwälte:</b> WEICKMANN, H. usw.; Kopernikusstrasse 9, D-81679 München (DE).		<b>(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts:</b> 16. November 2000 (16.11.00)	
<b>(54) Title:</b> PREPARATION OF A COMPOSITION AGAINST HEPATITIS B-, HI-, PARAMYXO- AND ORTHOMYXOVIRUSES			
<b>(54) Bezeichnung:</b> HERSTELLUNG EINES MITTELS GEGEN HEPATITIS B-, HI-, PARAMYXO- UND ORTHOMYXO-VIREN			
<div style="text-align: center;"> <chem>R4c1cc(N1=O)cc(C(=O)Nc2cc(R1)cc(R2)c(R3)c2)c1</chem></div>			
<b>(57) Abstract</b>			
<p>The invention relates to the utilisation of a substance of general formula (I) wherein (A) R<sub>1</sub> and R<sub>2</sub> are both hydrogen, R<sub>3</sub> is halogen, -CF<sub>3</sub> is alkoxy with one or two carbon atoms or a halogen substituted alkoxy with one or two carbon atoms and R<sub>4</sub> is alkyl with one to four carbon atoms or cycloalkyl with three or four carbon atoms, (B) R<sub>1</sub> is hydrogen and R<sub>2</sub> and R<sub>3</sub> which are the same or different are halogen or -CF<sub>3</sub> and R<sub>4</sub> is alkyl with one to four carbon atoms or cycloalkyl with three or four carbon atoms, (C) R<sub>1</sub> is hydrogen, R<sub>2</sub> is alkyl with one or two carbon atoms, R<sub>3</sub> is halogen and R<sub>4</sub> is alkyl with one to four carbon atoms or cycloalkyl with three or four carbon atoms, (D) R<sub>1</sub> is hydrogen, R<sub>2</sub> and R<sub>3</sub> together are 3',4'-methylenedioxy and R<sub>4</sub> is alkyl with one to four carbon atoms or cycloalkyl with three or four carbon atoms or the utilisation of a derivative of said formula, whereby said derivative has an open isoxazole ring or a physiologically compatible salt of said formula for producing an agent for the prevention or treatment of virus infections caused by hepatitis B viruses, HI viruses, viruses of the paramyxo group or/and orthomyxo group.</p>			

### (57) Zusammenfassung

Verwendung einer Substanz der allgemeinen Formel (I), worin (A) R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> jeweils Wasserstoff sind, R<sub>3</sub> ein Halogen, -CF<sub>3</sub>, Alkoxy mit 1 oder 2 Kohlenstoffatomen oder ein halogensubstituiertes Alkoxy mit 1 oder 2 Kohlenstoffatomen ist, und R<sub>4</sub> Alkyl mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen oder Cycloalkyl mit 3 oder 4 Kohlenstoffatomen ist; (B) R<sub>1</sub> Wasserstoff ist und R<sub>2</sub> und R<sub>3</sub>, die gleich oder unterschiedlich sind, ein Halogen oder -CF<sub>3</sub> sind, und R<sub>4</sub> Alkyl mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen oder Cycloalkyl mit 3 oder 4 Kohlenstoffatomen ist; (C) R<sub>1</sub> Wasserstoff ist, R<sub>2</sub> Alkyl mit 1 oder 2 Kohlenstoffatomen ist, R<sub>3</sub> ein Halogen ist und R<sub>4</sub> Alkyl mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen oder Cycloalkyl mit 3 oder 4 Kohlenstoffatomen ist; (D) R<sub>1</sub> Wasserstoff ist, R<sub>2</sub> und R<sub>3</sub> zusammen 3',4'-Methylenedioxy sind und R<sub>4</sub> Alkyl mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen oder Cycloalkyl mit 3 oder 4 Kohlenstoffatomen ist; oder eines Derivas davon mit offenem Isoxazolring oder eines physiologisch verträglichen Salzes davon, zur Herstellung eines Mittels zur Prävention oder Behandlung von Virusinfektionen durch Hepatitis-B-Viren, HI-Viren, Viren der Paramyxogruppe oder/und der Orthomyxogruppe.

### LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	KE	Kenia	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire			PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP 99/10463

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
IPC 7 A61K31/42 A61P31/12 A61P31/14 A61P31/16

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 0 821 952 A (HOECHST AG) 4 February 1998 (1998-02-04) claims 1,4	1-13
A	EP 0 821 960 A (HOECHST AG) 4 February 1998 (1998-02-04) claims 1,11	1-13
A	EP 0 607 775 A (HOECHST AG) 27 July 1994 (1994-07-27) claims 1,2	1-13
A	EP 0 649 660 A (HOECHST AG) 26 April 1995 (1995-04-26) page 5, line 18,19	1-13

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

24 July 2000

Date of mailing of the international search report

29/08/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

SANTOS, M

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 99/10463

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0821952	A	04-02-1998	DE 19640555 A	02-04-1998
			AU 718728 B	20-04-2000
			AU 3236897 A	05-02-1998
			CA 2212207 A	31-01-1998
			JP 10087484 A	07-04-1998
			US 6011051 A	04-01-2000
EP 0821960	A	04-02-1998	DE 19640556 A	02-04-1998
			AU 718237 B	13-04-2000
			AU 3236797 A	05-02-1998
			CA 2212205 A	31-01-1998
			JP 10067662 A	10-03-1998
			US 5981536 A	09-11-1999
EP 0607775	A	27-07-1994	US 5856330 A	05-01-1999
			AT 174218 T	15-12-1998
			DE 59407413 D	21-01-1999
			ES 2124800 T	16-02-1999
			GR 3029491 T	28-05-1999
			JP 6234635 A	23-08-1994
EP 0649660	A	26-04-1995	US 5556870 A	17-09-1996
			DE 4336434 A	27-04-1995
			CA 2134293 A	27-04-1995
			JP 7187995 A	25-07-1995

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/10463

## A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 A61K31/42 A61P31/12 A61P31/14 A61P31/16

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	EP 0 821 952 A (HOECHST AG) 4. Februar 1998 (1998-02-04) Ansprüche 1,4	1-13
A	EP 0 821 960 A (HOECHST AG) 4. Februar 1998 (1998-02-04) Ansprüche 1,11	1-13
A	EP 0 607 775 A (HOECHST AG) 27. Juli 1994 (1994-07-27) Ansprüche 1,2	1-13
A	EP 0 649 660 A (HOECHST AG) 26. April 1995 (1995-04-26) Seite 5, Zeile 18,19	1-13

☐ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfindertätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfindertätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

24. Juli 2000

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

29/08/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Beauftragter

SANTOS, M

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/10463

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 0821952 A	04-02-1998	DE 19640555 A	02-04-1998
		AU 718728 B	20-04-2000
		AU 3236897 A	05-02-1998
		CA 2212207 A	31-01-1998
		JP 10087484 A	07-04-1998
		US 6011051 A	04-01-2000
EP 0821960 A	04-02-1998	DE 19640556 A	02-04-1998
		AU 718237 B	13-04-2000
		AU 3236797 A	05-02-1998
		CA 2212205 A	31-01-1998
		JP 10067662 A	10-03-1998
		US 5981536 A	09-11-1999
		US 5856330 A	05-01-1999
EP 0607775 A	27-07-1994	AT 174218 T	15-12-1998
		DE 59407413 D	21-01-1999
		ES 2124800 T	16-02-1999
		GR 3029491 T	28-05-1999
		JP 6234635 A	23-08-1994
		US 5556870 A	17-09-1996
EP 0649660 A	26-04-1995	DE 4336434 A	27-04-1995
		CA 2134293 A	27-04-1995
		JP 7187995 A	25-07-1995